

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Гаврилюк О.М., Грицко Р.Ю., 2010
УДК 616.36-003.826-036.17-02:616.988

О.М. Гаврилюк, Р.Ю. Грицко

ЗНАЧЕННЯ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ДЛЯ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПЕЧІНКИ, АСОЦІЙОВАНИХ ІЗ СТЕАТОЗОМ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Проаналізовано імовірність ініціюючого впливу вірусної інфекції на прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом, на автопсійному матеріалі померлих від атипової пневмонії при спалаху епідемічного грипу у Львівській області (2009 р.).

Ключові слова: стеатоз, вірусні інфекції, атипова пневмонія.

Більшість захворювань печінки, при яких спостерігається стеатоз – алкогольне ураження, метаболічний синдром (ожиріння, дисліпідемія, гіпертензія та резистентність до інсуліну або цукровий діабет), гепатит С – розвиваються в декілька етапів [1-3]. Нагромадження ліпідів у вигляді макровакуолей може тривати досить довго без значного прогресування. Згідно гіпотези «двох поштовхів», запропонованої С.Р. Day (1998), перехід стеатозу у так званий «стеатогепатит» і наступний розвиток цирозу потребують дії додаткових стимулів, які ведуть до пошкодження гепатоцитів, запальної реакції та загоєння [4]. Фактори, які зумовлюють прогресування захворювань, множинні і вивчені недостатньо [5, 6]. Частина з них ендемічні (генетичні), але є дані і про можливість екзогенних впливів: токсини [7, 8], інфікування вірусами [9]. Більше відомо про безпосередні механізми, що зумовлюють пошкодження: посилення перекисного окислення ліпідів, токсичний вплив жирних кислот та цитокінів, порушення функції мітохондрій, окисний стрес [10, 11]. Крім того, існує гіпотеза, згідно якої при деяких вірусних інфекціях, зокрема при грипі А, може спостерігатись імуноопосередковане, так зване колатеральне, пошкодження гепатоцитів, що супроводжується підвищенням рівня трансаміназ [12]. Вважається, що такі ураження спостерігаються у третині випадків грипу. Оскільки серед робіт, присвячених даній проблемі, переважають експериментальні, ми вважали за

доцільне використати своєрідну «природну модель» – ураження печінки у померлих під час спалаху епідемії грипу А/Н1Н1 у Львівській області у листопаді-грудні 2009 р. і провести аналіз ролі вірусної інфекції у прогресуванні попередньо існуючих змін печінки.

Метою роботи було вивчення ролі вірусної інфекції як фактора прогресування стеатозу печінки у гепатит та цироз.

Матеріали і методи

Було проаналізовано 54 випадки стеатозу печінки, виявлені при автопсійному дослідженні померлих від атипової пневмонії при епідемічному грипі, проведеному у Львівському обласному патологоанатомічному бюро.

Критеріями для відбору у групу були морфологічні ознаки атипової пневмонії (мононуклеарна інфільтрація міжальвеолярних перетинок, серозно-геморагічний вміст у просвітах альвеол, гіалінові мембрани та інтраальвеолярні депозити фібрину) та стеатозу печінки (більше 10 % уражених гепатоцитів [13]). Для підтвердження вірусної інфекції визначався генотип вірусу за допомогою ПЛР. У кожному випадку враховували вік, стать, вторинну інфекцію, супутні захворювання (розділені на ожиріння з або без цукрового діабету та інші види патології). Ступінь ожиріння оцінювали за індексом маси тіла (ІМТ): <25 (відсутнє), >25 (наявне). У всіх випадках проводилась інтенсивна терапія, яка обов'язково включала таміфлю та антибактерійні препарати.

Тканину печінки фіксували у 10 % забуференому формаліні і після рутинної обробки фарбували гематоксилін-еозином та трихромом Массона. Патогістологічні зміни оцінювали за якісними ознаками або напівкількісною шкалою. За ступенем виразності стеатозу були виділені: 0 (незначні зміни) – вогнищеві макровакуольні або змішані (мікро-макровакуольні) зміни у центролобулярних відділах часточок; 1 (виражені зміни)

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

– >60 % гепатоцитів з ознаками макро- та мікростеатозу, дифузно розміщені у часточці. Оцінка альтеративно-запальних змін (активності процесу) включала визначення ступеня виразності, локалізації мононуклеарного інфільтрату та асоційованої загибелі гепатоцитів: 0 (незначні зміни) – інфільтрація портальних трактів незначна або відсутня), 1 (помірні зміни) – помірна інфільтрація портальних трактів і септ та поодинокі інтралобулярні скупчення макрофагів та лімфоцитів, 2 (виражені зміни) – помірна інфільтрація портальних трактів і септ та множинні інтралобулярні скупчення макрофагів та лімфоцитів. Оцінка фіброзу передбачала 4 ступеня виразності: незначне розширення портальних трактів (відсутній), поодинокі короткі септи (незначний), множинні довгі, включаючи порто-центральної септи (виражений), утворення вузлів (цироз).

Статистичний аналіз. Досліджувані дані були представлені у вигляді середніх величин \pm стандартне відхилення (кількісні показники) та відсотків (якісні та порядкові показники). Для виявлення статистичної значущості різниці показників між підгрупами застосовували непараметричний критерій Манн-Вітні як такий, що є невибагливим до форми розподілу у вибірці. Статистична обробка здійснювалась за допомогою пакету програм «Statistica for windows 5.0» (Statsoft, USA)

Результати досліджень та їх обговорення

При дослідженні автопсійного матеріалу померлих від атипової пневмонії при грипі під час спалаху епідемії грипу A/N1H1 у Львівській області у жовтні-грудні 2009 р. було виявлено, що у 54 випадках спостерігалась жирова дистрофія гепатоцитів, асоційована з різного ступеня виразності запальною інфільтрацією та фіброзом (табл. 1). Стеатоз печінки практично з однаковою частотою спостерігався у чоловіків і жінок. Середній вік складав 38,3 року. Вторинна інфекція була у третині випадків. У багатьох хворих були виявлені супутні захворювання, серед яких найчастіші ожиріння та/або цукровий діабет (42,6 %).

При гістологічному дослідженні стеатоз незначного ступеня виразності та помірно/виражене нагромадження ліпідів спостерігались майже з однаковою частотою (46,3 та 53,7 % відповідно). Ознаки активності процесу (альтеративно-запальні зміни) у більшості випадків були незначними або відсутніми (70,4 %) і лише у 14,8 % були вираженими. Фіброз у 77,8 % був відсутнім або незначно вираженим.

Для того, щоб прослідкувати можливість асоціації альтеративно-запальних змін з окремими видами стеатозу та відповідно впливу інфільтрату

Таблиця 1

Характеристика померлих від атипової пневмонії з ознаками стеатозу печінки

Параметр	Випадки (n=54)
Стать, чоловіки, n (%)	26 (48,0)
Вік (роки)*	38,3 \pm 10,4 [14]
Вторинна інфекція, n (%)	18 (33,3)
Супутні захворювання, n (%)	
ожиріння + цукровий діабет	23 (42,6)
інші або відсутні	31 (57,4)
Стеатоз, n (%)	
незначний	25 (46,3)
помірний	20 (37,0)
виражений	9 (16,7)
Альтеративно-запальні зміни, n (%)	
незначні	38 (70,4)
помірні	8 (14,8)
виражені	8 (14,8)
Фіброз, n (%)	
відсутній	20 (37,0)
незначний	22 (40,8)
виражений	9 (16,7)
цироз	3 (5,5)

Примітка. * Результати представлені у вигляді середнього арифметичного (стандартне відхилення)

на подальше пошкодження паренхіми, в кожному випадку було проаналізовано етіопатогенетичні особливості уражень печінки. Найчастіше зустрічались алкогольний та неалкогольний (асоційований з метаболічним синдромом) генез жирової дистрофії, що супроводжувалось більш або менш вираженим запаленням та фіброзом. Але на нашому матеріалі не було можливості достовірно відрізнити випадки алкогольного та неалкогольного стеатозу ні на гістологічному рівні, ні на основі клініко-анатомічного аналізу. Тому для того, щоб виявити можливість ініціювання пошкодження паренхіми з наступним прогресуванням стеатозу у стеатогепатит, було виділено групу неалкогольного стеатозу (НАС), асоційованого з метаболічним синдромом. В подальшому було проведено порівняння виявлених гістологічних змін у цих випадках з іншими пацієнтами (табл. 2).

Виразність стеатозу була більшою при НАС: у 60,9 % спостерігалось ураження 30-60 % гепатоцитів, в той час як в інших випадках переважали незначні зміни (ураження менше 30 % паренхіми). Альтеративно-запальні зміни були виражені практично однаково в обох групах з переважанням незначного ступеня (73,9 % у групі з НАС і

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 2

Гістологічні зміни, асоційовані із супутніми захворюваннями

Параметр	НАС (n=23)	Інші захворювання (n=31)
Стеатоз (розповсюдження), n (%)		
незначний	8 (34,8)	17 (54,8)
помірний	14 (60,9)	6 (19,4)
виражений	1 (4,3)	8 (25,8)
Альтеративно-запальні зміни, n (%)		
незначні	17 (73,9)	21 (67,7)
помірні	4 (17,4)	4 (12,9)
виражені	2 (8,7)	6 (19,4)
Фіброз, n (%)		
відсутній	5 (21,7)	15 (48,4)
незначний	14 (60,9)	8 (25,8)
виражений	4 (17,4)	5 (16,1)
цироз	-	3 (9,7)

67,7 % в інших пацієнтів). Фіброз був більш вираженим при НАС (60,9 % – незначний ступінь виразності), ніж при інших ураженнях (25,8 % – незначний ступінь виразності).

Проведений статистичний аналіз показав, що відмінності між основними гістологічними проявами у досліджуваних групах не є статистично значущими.

Відомо, що стеатоз є першим етапом ураження печінки. Прогресування у гепатит – як алкогольний, так і неалкогольний – потребує додаткових стимулів, до яких можна віднести і інфекції, зумовлені вірусами – вірусом грипу А, синцитіальної інфекції, коронавірусом (SARS-асоційованим) [14]. Ураження печінки при дії вірусів, що не належать до гепатотропних, описані переважно в експериментальних роботах (у зв'язку з обмеженнями клінічних досліджень). Так, N.K. Polacos у 2006 р. [12] запропонував модель «колатерального пошкодження» гепатоцитів: вірусоспецифічні CD8 Т-лімфоцити, які утворюються у відповідь на інфікування вірусом і згодом при генералізації процесу потрапляють у різні органи, включаючи печінку, де можуть спричинювати активацію клітин Купфера та наступне пошкодження гепатоцитів шляхом активації апоптозу. Цей механізм відрізняється від характерного для вірусних гепатитів імунного цитолізу («*bystander effect*»), при якому антиген-специфічні та антиген-неспецифічні клітини зумовлюють пошкодження у місці локалізації антигену. D. Adams [15], узагальнюючи дослідження даного питання, наводить наступні положення: групи активованих Т-лімфоцитів виявляються у синусоїдах внаслідок взаємодії інте-

ринів на Т-клітинах та інтегринових ліганд на ендотеліоцитах синусоїдів (у протилежність дифузній інфільтрації за наявності антигену у печінці). Пошкодження гепатоцитів найбільш імовірно пов'язане з активацією клітин Купфера, які зумовлюють апоптоз, хоча можливі й інші механізми альтерації (гіпоксія).

Одним з основних морфологічних проявів при колатеральному пошкодженні буде скупчення лімфоцитів та клітин Купфера по ходу синусоїдів – інтралобулярні інфільтрати. Такі зміни можуть спостерігатись і при інших варіантах уражень, але імовірно, що їх кількість має бути значною для того, щоб спричинити альтерацію паренхіматозних елементів. Тому при аналізі альтеративно-запальних змін основну увагу ми приділили наявності, перисинусоїдній локалізації та ступеню виразності інтралобулярних інфільтратів. Звичайно, достовірне підтвердження наявності колатерального пошкодження вимагає виявлення ознак активації вірус-специфічних CD8 Т-клітин та клітин Купфера за допомогою імуногістохімічних або інших методів, але ми вважали, що значні кількісні відмінності теж можуть служити адекватним критерієм.

Одержані дані показали, що в третині випадків спостерігався незначний ступінь виразності альтеративно-запальних змін, а множинні інтралобулярні скупчення лімфоцитів та макрофагів виявлялись лише в 7 %. При порівнянні НАС з іншими випадками різниці у виразності альтеративно-запальних змін не було виявлено. Тому зробити висновок про те, що віруси грипу можна вважати факторами, здатними спровокувати подальше

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ураження паренхіми печінки при стеатозі, на нашому матеріалі неможливо. Звичайно, ступінь ураження даного положення (можливість застосування для інших груп) є низьким, що пов'язано з обмеженнями даної вибірки: хворі померли від дихальної недостатності на фоні атипової пневмонії, що може свідчити про генетично зумовлену «скомпрометованість» дихальної системи. На сьогодні добре відомо, що у прогресуванні неалкогольного стеатогепатиту важливу роль відіграє генетична схильність [16]. По аналогії не можна виключити існування різних варіантів генетичної детермінованості і для перебігу вірусних інфекцій: з переважним ураженням респіраторного відділу легень (розвиток атипової пневмонії), тканини печінки (гепатит внаслідок колатерального пошкодження гепатоцитів) або, можливо, інших органів. Якщо у хворих генетично «скомпрометована» печінка, імовірність її пошкодження в умовах вірусної інфекції стає досить високою. В таких випадках альтеративно-запальні зміни в печінці можуть бути маркером прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом. Але, оскільки наша вибірка включала випадки з вираженими змінами легеневої тканини, імовірно, печінка при цьому не відносилась до «тропних» органів і відповідно ознаки прогресуючого пошкодження в ній не виявлялись.

Фіброз як остання стадія розвитку хронічних захворювань печінки, виявлявся лише у половині випадків (52 %) і був переважно незначного ступеня виразності. При НАС він був дещо більш вираженим, порівняно з іншими випадками. Генез фіброзу імовірно пов'язаний із попередньо існуючою патологією, зокрема метаболічним синдромом.

Висновки

1. Альтеративно-запальних змін на фоні стеатозу у померлих від атипової пневмонії при епідемічному грипі не було або вони були мінімальними.

2. Ступінь ознак пошкодження та інфільтрації у пацієнтів з метаболічним синдромом не відрізнявся від уражень в інших випадках.

3. Імовірність вірус-зумовленого пошкодження паренхіми як фактора ініціювання прогресуючого перебігу хронічних захворювань печінки, асоційованих зі стеатозом, є низькою у даного контингенту хворих і потребує подальшого вивчення.

Література

1. Бабак О.Я. Алкогольная болезнь печени: научные достижения и клинические перспективы // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 6. – С. 4-9.

2. Федів О.І. Особливості ураження гепатобіліарної системи у хворих на цукровий діабет II типу // Буковинський медичний вісник. – 2008. – № 4. – С. 126-130.

3. Этиология хронических диффузных поражений печени / Никушкина И.Н., Маев И.В., Самсонов А.А. и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2007. – № 5. – С. 36-39.

4. Day C.P., James O.F. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? // Gastroenterology. – 1998. – Vol. 114. – P. 842-845.

5. Ткач С.М. Современные подходы к диагностике и лечению стеатогепатитов // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – № 6. – С. 25-29.

6. Фадеев Г.Д., Кравченко Н.А. Стеатогепатит. Биохимические маркеры и проблемы диагностики // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 1. – С. 8-14.

7. Зінчук А.Н., Пасічна І.А. Значення стеатогепатозу у патології людини // Гепатологія. – 2009. – № 1. – С. 28-35.

8. Степанов Ю.М., Филиппова А.Ю. Клинические особенности течения неалкогольного стеатогепатита в зависимости от сопутствующих заболеваний // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 3. – С. 4-7.

9. Пентюк Н.О. Стеатоз печінки у хворих на хронічну HCV-інфекцію: поширення та зв'язок із фіброзом печінки // Галицький лікарський вісник. – 2008. – № 3. – С. 75-77.

10. Erickson S.K. Nonalcoholic fatty liver disease // J. Lipid Res. – 2009. – Vol. 50, Suppl. – P. 412-416.

11. Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment / Schreuder T.C., Verwer B.J., van Nieuwkerk C.M.J., Mulder C.J. // World J. Gastroenterol. – 2008. – N 14. – P. 4111-4119.

12. Kupffer cell-dependent hepatitis occurs during influenza infection / Polacos N.K., Cornejo J.C., Murray D.A. et al. // Am. J. Pathol. – 2006. – Vol. 168, N 4. – P. 1169-1178.

13. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / Kleiner D.E., Brunt E.M., van Natta M. et al. // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 1313-1321.

14. Shimizu Yu. Liver in systemic disease // World J. Gastroenterol. – 2008. – N 14. – P. 2474-2486.

15. Adams D.H., Hubscher S.G. Systemic viral infections and collateral damage in the liver // Am. J. Pathol. – 2006. – Vol. 168, N 4. – P. 1057-1059.

16. Osterreicher C.H., Brunner D.A. The genetics of nonalcoholic fatty liver disease // Ann. Hepatol. – 2007. – N 6. – P. 83-88.

VIRAL INFECTION AS FACTOR OF PROGRESSIVE COURSE OF CHRONIC LIVER DISEASES ASSOCIATED WITH STEATOSIS

O.M. Havrylyuk, R.Yu. Hrytsko

SUMMARY. *Probability of the initiative role of viral infection in the progressive course of chronic liver diseases associated with steatosis was analyzed using autopsy material of patients died from atypical pneumonia during the influenza epidemic in Lviv region (2009).*

Key words: *steatosis, viral infections, pneumonia.*

Отримано 12.09.2010 р.